

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑬ 公開特許公報(A)

昭63-51337

⑫ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和63年(1988)3月4日

A 61 K 37/02

ADU

8615-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑯ 発明の名称 抗腫瘍剤

⑰ 特 願 昭61-196629

⑱ 出 願 昭61(1986)8月22日

⑲ 発 明 者 堂 迫 俊 一 埼玉県浦和市北浦和5-15-39-616
⑲ 発 明 者 谷 口 真 理 子 埼玉県所沢市西狭山ヶ丘1-2440-91
⑲ 発 明 者 鶴 純 明 東京都練馬区田柄3-9-7-303
⑳ 出 願 人 雪印乳業株式会社 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号
㉑ 代 理 人 弁理士 宮田 広豊

明 細 書

1. 発明の名称

抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

- (1) 乳から分離したラクトフェリンに第2鉄イオンをキレート結合させて成る鉄結合型ラクトフェリンを有効成分とする抗腫瘍剤。
- (2) ラクトフェリン1分子当り、1～2分子の鉄をキレート結合させている特許請求の範囲第(1)項記載の抗腫瘍剤。
- (3) 経口投与に適した錠剤、タブレットもしくはカプセルの形態にした特許請求の範囲第(1)項記載の抗腫瘍剤。
- (4) 輸液中に配合して経腸投与に適した形態にした特許請求の範囲第(1)項記載の抗腫瘍剤。
- (5) 飲料もしくはゼリー形態にした特許請求の範囲第(1)項記載の抗腫瘍剤。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、悪性腫瘍の増殖抑制に利用される抗腫瘍剤に関する。

技術的 배경

本発明者らは、乳から分離されるラクトフェリンの生理的活性について研究している過程で、ラクトフェリンに第2鉄イオンをキレート結合させた鉄結合型ラクトフェリンが造血作用のほかに、抗腫瘍活性を有することの知見を得た。

発明が解決しようとする課題

したがって、本発明は鉄結合型ラクトフェリンを有効成分とする抗腫瘍剤を提供することを課題とする。

本発明者らは、乳から分離して得られるラクトフェリンに第2鉄イオンをキレート結合させた鉄結合型ラクトフェリンが、そのラクトフェリンに結合している鉄が第2鉄(Fe^{2+})であり、かつ非ヘム形態の鉄であるにもかかわらず、有意に体内に吸収されて腫瘍の増殖作用を示すことを見出し、本発明をなすに至った。

BEST AVAILABLE COPY

図に、(Morck T.A. and Cook J.D., 「シリアル フード ワールド」(Cereal Foods World)、25、667~672、1981)の研究報告によると、食物に含まれる鉄は、ヘム鉄と非ヘム鉄に分けられ、ヘム鉄はその吸収率が良好である(吸収率15~35%)反面、食物中の含有量が少なく、それを食品に添加して補給すると味が血生臭くなる欠点があり、一方、非ヘム鉄は食物中の鉄の主成分ではあるが、その存在状態が吸収性に可成り影響を及ぼすとされる。例えば、非ヘム鉄はアスコルビン酸や炭酸などとの共存下では吸収性が良いものの、卵、大豆、米、茶などと共に摂取した場合には吸収が著しく阻害される。

また、鉄の吸収性に関する多くの研究報告によると、一般に、経口摂取される鉄は、消化管内で可溶性である第1鉄(Fe^{2+})の方が、pH 3以上で不溶化になる第2鉄(Fe^{3+})より、吸収率が高いとされている。すなわち、鉄が主として吸収される小腸上部の内容物の pH 5~6 の範囲では第

「日本農薬化学会講演要旨集」)を適用するとよい。また、本発明において用いる第2鉄イオンとしては塩化第2鉄、硫酸第2鉄などの食品衛生上無害な第2鉄化合物が適している。

上記ラクトフェリンに第2鉄イオンをキレート結合させるには、ラクトフェリンと第2鉄化合物を、クエン酸ナトリウムもしくは重炭酸ナトリウムの存在下で混合させることにより行い得る。

すなわち、ラクトフェリンをクエン酸ナトリウム又は重炭酸ナトリウムの溶液に溶解し、これに塩化第2鉄や硫酸第2鉄を添加して溶解し、常温下に1時間程度攪拌を行ってラクトフェリンに第2鉄イオンをキレート結合させる。上記キレート結合におけるラクトフェリンに対する第2鉄の混合割合は、ラクトフェリン(変性していないもの)1分子に対して第2鉄は2分子まで結合することが知られていることから、2:1のモル比で混合することが好ましい。

次に、上述 ごとくして得られた鉄結合型ラク

トフェリンはヘム鉄と同様に溶解性が良いため吸収も高い。

以下本発明を詳しく説明する。

発明の構成

本発明の構成上の特徴は、乳から分離したラクトフェリンに第2鉄イオンをキレート結合させた鉄結合型(鉄飽和)ラクトフェリンを有効成分とする抗腫瘍剤にある。

問題を解決するための手段

本発明に係る抗腫瘍剤に用いられるラクトフェリンは、乳から公知の分離方法により得られる。例えば、イオン交換樹脂を用いて乳からラクトフェリン濃度を高めた画分を分離する方法(特開昭58-28233号)などを適用し得るが、ラクトフェリンのタンパク質当りの鉄結合量を高めるには、一そう純度の高い、かつ変性のないラクトフェリンを用いることが望ましく、そのためには抗ラクトフェリンモノクローナル抗体を固定化したアフィニティカラムを利用して分離する方法(川上ら、

トフェリンは脱塩処理及び膜外濾過処理を行つた後、溶液形態のまま抗腫瘍剤として用いてもよいが、通常、該溶液を濃縮後凍結乾燥などにより乾燥して粉末形態で用いる。また、本発明に係る抗腫瘍剤は、錠剤やタブレットもしくはカプセル等の製剤として用いることもでき、さらには、胃潰瘍などにより、胃壁から多量の出血がある場合や、その他の疾病で胃が極度に弱っている場合には、経腸投与する輸液形態の栄養剤に配合して用いることもできる。

なお、本抗腫瘍剤の構成成分であるラクトフェリンは元来乳中に存在する乳タンパク質の一種である糖タンパク質であるから、人体に対する悪影響は伺われず、その摂取量についても特に制限的でない。しかし、實際上抗腫瘍剤として利用する場合は、20~200mg/日/kg程度が適当である。

本発明に係る抗腫瘍剤の有効成分である鉄結合型ラクトフェリンにおける第2鉄イオンはラクト

フェリンにキレート結合されているので酸性下でも遊離せず、したがって、人体に投与した場合結合状態のままで腸管に速し吸収され得る。

以下に実施例を示して本発明及びその効果を具体的に説明する。

実施例1

本抗癌剤の有効成分である鉄結合型（鉄飽和）ラクトフェリンの調製：

抗ウシラクトフェリンモノクローナル抗体を固定化したアフィニティカラムに生脱脂乳 100kgを通過して、ラクトフェリン 12gを得た。

ついで、上記ラクトフェリンを 0.015モルのクエン酸ナトリウム溶液 1200mlに溶解した後これに塩化第2鉄 120mgを追加、溶解した。得られた混合溶液を室温下に1時間攪拌を行った後、膜ろし、膜外濾過乾燥後、凍結乾燥して目的の鉄結合型ラクトフェリン 11.8gを得た。ラクトフェリン 1g当り 1.4mgの鉄が含まれていた。

与した区では 20mm^2 であり、2週間投与した区では 5mm^2 であつた。

これに対し、対照区の平均サイズは、1週間飼料のみを与えた区では 31mm^2 であり、2週間飼料のみを与えた区では 35mm^2 であつた。

上記試験結果から、本発明による鉄結合型ラクトフェリンを投与することによる抗癌活性が認められる。

実施例2

本例は、本発明による抗癌剤の下記投与試験による腫瘍抑制効果を示したものである。

①試験方法

BACB/cのマウス雌(9W)10匹から成る試験区を用い、各マウスに上記鉄結合型ラクトフェリンを1日当り 20mg/kg 1週間並びに2週間の期間標準飼料 CE-7 と共にそれぞれ投与した後、がん細胞 Heth A (吉富製薬k.k)を $1 \times 10^4/0.1\text{ml}$ 皮下接種を行い、更に1週間づつ上記ラクトフェリンを投与した後、上記がん細胞の接種による腫瘍の大きさ(長径×短径)を測定した。

なお、対照として上記鉄結合型ラクトフェリンを投与することなく標準飼料 CE-7 のみを与えることを除いては上記と同様の手順で処置して腫瘍の大きさを測定した。

②試験結果

本発明による鉄結合型ラクトフェリンを投与した試験区のマウスの平均サイズは事前に1週間投

出願人 雪印乳業株式会社
代理人 宮 田 広 豊

BEST AVAILABLE COPY